



¿Puede usarse la frecuencia de nucleótidos en muestras complejas de DNA para determinar cambios en su composición microbiana?

Martínez-Ballesteros I, Bernal A, Laorden L, San Millán R, Garaizar J, Bikandi J

Departamento Inmunología, Microbiología y Parasitología, Universidad del País Vasco.

En las muestras naturales, los factores ambientales determinan la presencia en el ecosistema de un grupo procariota u otro. En este trabajo hemos estudiado el potencial que presenta el estudio de la frecuencia de oligonucleótidos en muestras complejas de DNA para detectar cambios en su composición. Cada microorganismo presenta en su genoma una frecuencia de oligonucleótidos característica denominada en la actualidad “firma genética” (*genetic signature*). Los organismos filogenéticamente relacionados presentan firmas genéticas similares. Dado que las bacterias responden rápidamente a cambios ambientales, el estudio de la composición de oligonucleótidos de la muestra podría ser utilizado para detectar modificaciones en los patrones de frecuencias, y por tanto de la composición de microorganismos.

En este trabajo hemos estudiado la composición de oligonucleótidos de las muestras obtenidas en el proyecto de secuenciación del Mar de los Sargazos (Venter, 2005). Nuestro primer estudio tenía como finalidad determinar si la frecuencia de oligonucleótidos se mantiene constante con independencia de la cantidad de pares de bases estudiados de cada muestra. De cada uno de los 7 metagenomas del Mar de los Sargazos, se seleccionaron al azar un número de secuencias suficiente para obtener 5, 10, 20 y 40 millones de pares de bases (28 grupos de secuencias). Se estudiaron las frecuencias de oligonucleótidos de 2 a 8 bases para todos los grupos de secuencias, se calcularon distancias euclídeas para las frecuencias, y se agruparon mediante UPGMA. En los dendrogramas resultantes, los grupos de secuencias obtenidos de cada uno de los metagenomas, se agruparon en clusters diferenciados independientemente de la longitud del oligonucleótido estudiado. Consecuentemente, se puede concluir que la secuenciación de tan solo 5 millones de pares de bases de una muestra ambiental contiene suficiente información como para poderla diferenciar de otras muestras.

Por otro lado, el estudio de oligonucleótidos suficientemente largos podría permitir la identificación de los grupos procariotas mayoritarios en la muestra. Hemos estudiado la frecuencia de dodecanucleótidos en los genomas procariotas secuenciados hasta la fecha con la intención de determinar la posibilidad de usar estos oligonucleótidos para diferenciar grupos procariotas. Se ha creado una base de datos con todos estos cálculos, que permite obtener datos de frecuencias para cada genoma, observándose que la presencia o ausencia de dodecanucleótidos concretos se da en cepas relacionadas. Se realizaron algunos experimentos de hibridación que demostraron la posibilidad técnica de detectar la unión específica entre genomas y dodecanucleótidos. También hemos estudiado los dodecanucleótidos en las muestras del mar de los Sargazos, y los datos son accesibles en la base de datos.

El desarrollo de nuevas técnicas de secuenciación de alto rendimiento y la drástica reducción de los costes de secuenciación podrían permitir que el estudio de la composición de oligonucleótidos de una muestra pudiese ser usada como método de screening para determinar modificaciones en su composición.